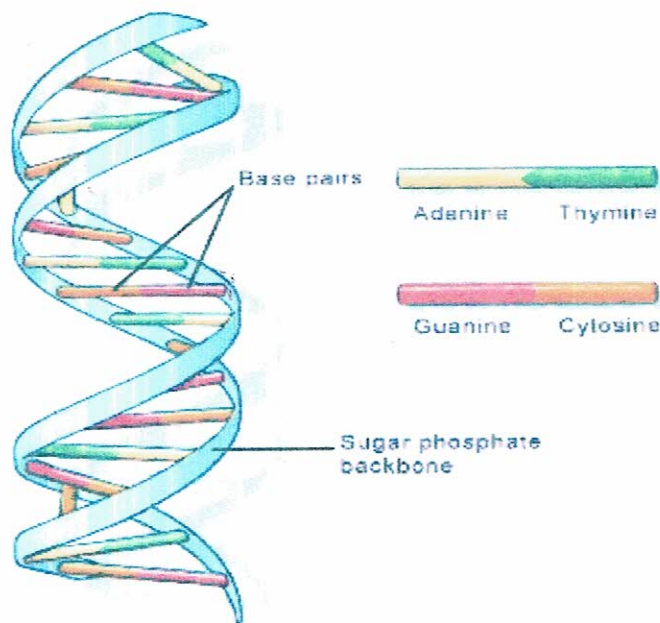


# LAPORAN PENELITIAN

## KAJIAN KERAGAMAN GEN PENENTU KUALITAS LEMAK MENGUNAKAN METODE *DIRECT SEQUENCING* SEBAGAI *MARKER* *ASSISTED SELECTION* DALAM PENINGKATAN DAN PENGEMBANGAN DOMBA LOKAL

Rumpun Ilmu : Pemuliaan Ternak (*Nutrigenomic*)



U.S. National Library of Medicine

OLEH :

HIDAYATI (K)

TRIANI ADELINA (A)



DIBIYAI OLEH :  
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
UIN SULTAN SYARIF KASIM RIAU  
2013

## PENGESAHAN

Nomor: Un.04/L.I/TL.03/ 448 /2013

Judul : Kajian Keragaman Gen Penentu Kualitas Lemak Menggunakan Metode Direct Sequencing Sebagai Marker Assistend Selection dalam Peningkatan dan Pengembangan Domba Lokal

Peneliti : 1. Hidayati, S.Pt, MP  
2. Triani Adelina, S.Pt

Pangkat/Gol : Pembina Tk. IIII/d Lektor

Fakultas/Unit : Pertanian dan Peternakan

Bidang Ilmu : Pemuliaan Ternak

Jenis Penelitian : Terapan

Bentuk Penelitian : Kolektif

Lokasi : Pekanbaru

Waktu : Bulan April s.d Oktober 2013

Telah diseminarkan pada  
Hari/Tanggal: Jum'at, 29 November 2013

Narasumber



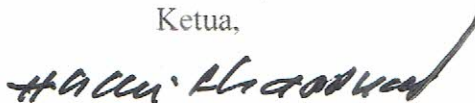
Dr. Yendraliza, S.Pt, MP

Peneliti



Hidayati, S.Pt, MP

Mengetahui:  
an. Rektor,  
Ketua,



Drs. Husni Thamrin, M.Si  
NIP.196908061994021001



## PRAKATA

Puji syukur penulis persembahkan kepada Allah SWT, atas karunia, rahmat dan kasih sayangNya sehingga laporan penelitian yang berjudul “KAJIAN KERAGAMAN GEN PENENTU KUALITAS LEMAK MENGGUNAKAN METODE *DIRECT SEQUENCING* SEBAGAI *MARKER ASSISTED SELECTION* DALAM PENINGKATAN DAN PENGEMBANGAN DOMBA LOKAL’ dapat diselesaikan. Penyediaan pangan ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal) serta terjamin keberlanjutannya merupakan hal mendesak yang menjadi perhatian kita semua, baik dari kalangan perguruan tinggi, pemerintah dan *stake holder*. Untuk itu upaya pengembangan dan peningkatan ternak lokal menjadi perhatian utama karena telah beradaptasi dan mampu berkembang baik di suatu wilayah. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah melakukan identifikasi gen-gen yang dapat meningkatkan kualitas lemak daging domba sehingga dapat dijadikan MAS (*Marker Assisted Selection*) dalam rangka peningkatan dan pengembangan domba lokal.

Pada kesempatan ini izinkanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian dan pembuatan laporan ini yaitu;

1. Rektor UIN Suska Riau, Kepala LPPM UIN Suska Riau dan staf atas dana penelitian yang diberikan
2. Dekan Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau yang telah memberikan izin sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik
3. Isnandar Putra, S.Pt., Holfinaldi, S.Pt. dan drh. Hanif dari Dinas Peternakan Provinsi Sumatera Barat yang telah banyak membantu dalam penentuan dan pengambilan sampel penelitian
4. Sahabat-sahabatku di Laboratorium Genetika Molekuler Ternak Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan IPB atas kebersamaan, *sharing* ilmu dan teknis di laboratorium, penulis ucapkan terima kasih
5. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu atas segala doa, bantuan dan dukungannya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pengembangan keilmuan dan teknologi di masa yang akan datang.

Pekanbaru, November 2013

Penulis

## ABSTRACT

The aims of research were found SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) and diversity of Lecithin Cholesterol Acyl Transferase and Lipoprotein Lipase genes that plays a role in the transport, deposition and fatty acid composition in the blood and body tissues of sheep. DNA extracted from the blood of 50 sheep local Padang according to Sambrook et al. (1989). Amplification LCAT gene of exon 6 and LPL gene exon 1 using PCR and direct sequencing method performed to obtain the sequence of a gene fragment that LCAT and LPL gene has been amplified. The results of sequencing LCAT and LPL genes were analyzed using the program BioEdit (viewing and editing) and alignment using the program MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) version 5.2 with Clustal W alignment method (Tamura et al. 2008). The results showed the discovery of new 4 SNPs in LCAT gene fragment exon 6 in Padang Local Sheep population at base position c.742C>T, c.770 T>A, c.771>A and c.883C>T. The combination of these four point mutations formed 7 types sequences (A,B,C,D,G,I and J). A Cytosine substitution Thymine at c.742 is *synonymous mutation* (Ala>Ala). A Thymine substitution Adenine at c.770 and A Cytosine substitution Thymine at c.742 are *non-synonymous mutations* resulted in amino acid changes Phenylalanine into Isoleucine (Phe>Ile) and amino acid changes Alanine into Valine (Ala>Val). Adenine or Thymine insertion at position c.771 (c.770-c.772) formed amino acid Tyrosine (Y) is a *frameshift mutation* that results a stop codon is not in place properly. LCAT gene polymorphism was in low category ( $H_o = 0.0000 - 0.1224$ ), so this locus has not been able to serve as a genetic identifier for the local sheep Padang. The second research was founded one SNP at c.213 of LPL gene, Thymine insertion, formed amino acid Methionine (Met). Substitution Thymine to Guanine at c.213 changes amino acid Methionine to Arginine (*non-synonymous mutations*). This mutation changes the structure and function of the LPL gene. The All new SNPs have not been found in other sheep population in the world.



## ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah menemukan SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) dan keragaman gen *Lecithin Cholesterol Acyl Transferase* dan *Lipoprotein Lipase* yang berperan dalam proses transport, deposisi dan komposisi asam lemak dalam darah dan jaringan tubuh ternak domba. DNA domba berasal dari 50 ekor Domba Lokal Kota Padang yang diekstraksi menurut Sambrook *et al.* (1989). Amplifikasi gen LCAT ekson 6 dan gen LPL ekson 1 menggunakan mesin PCR dan metode direct sequencing dilakukan untuk mendapatkan sekuen dari fragment gen LCAT dan LPL yang telah diamplifikasi. Sekuen DNA gen LCAT dan LPL hasil sekuensing dianalisis menggunakan program BioEdit (*viewing* dan *editing*) dan *alignment* menggunakan program MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versi 5.2 dengan metode *alignment* Clustal W (Tamura *et al.* 2008). Hasil penelitian memperlihatkan ditemukannya 4 SNP baru pada fragment gen LCAT ekson 6 populasi domba lokal Kota Padang yaitu pada posisi basa c.742C>T, c.770 T>A, c.771>A dan c.883C>T. Kombinasi keempat titik mutasi ini membentuk 7 tipe sekuen yaitu tipe A,B,C,D,G,I dan J. Substitusi Cytosin menjadi Thymine pada posisi basa c.742 merupakan *synonymous mutation* (Ala>Ala). Substitusi Thymine menjadi Adenine pada basa c.770 dan substitusi Cytosine menjadi Thymine pada posisi basa c. 883 merupakan *non synonymous mutation* mengakibatkan perubahan asam amino Phenylalanine menjadi Isoleucine (Phe>Ile) dan perubahan asam amino Alanine menjadi Valine (Ala>Val). Insersi Adenine atau Thymine pada posisi basa 771 (c.770-772) membentuk asam amino Tyrosine (Y) merupakan *frameshift mutation* yang mengakibatkan munculnya *stop codon* tidak ditempat semestinya. Nilai heterosigositas gen LCAT pada keempat titik mutasi pada domba lokal Indonesia menunjukkan nilai heterosigositas yang rendah dengan kisaran nilai 0,0000 – 0,1224 sehingga lokus ini belum mampu dijadikan sebagai penciri genetik untuk populasi domba lokal Kota Padang yang diamati. Ditemukan satu SNP pada posisi c.213>T dari gen LPL, yang mengakibatkan terbentuknya asam amino *Methionine*. Mutasi pada posisi basa c.213 T>G yang mengakibatkan berubahnya asam amino yang disandikan yaitu *Methionine* > *Arginine* (*non synonymous mutation*) yang berdampak pada perubahan struktur dan fungsi dari gen LPL. SNPs ini merupakan SNP baru yang belum ditemukan pada populasi domba lainnya di dunia.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>PRAKATA</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>ABSTRAK</b>	iii
<b>DAFTAR ISI</b>	iv
<b>DAFTAR TABEL</b>	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	viii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Kerang Pikir, Asumsi dan Hipotesis	4
1.6 Jadwal Penelitian	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	6
2.1 Karakteristik Domba Lokal Indonesia	6
2.2 Kandungan Lemak dan Kolesterol Daging Domba	6
2.3 Hubungan Kualitas Daging dengan Lemak Daging Domba	7
2.4 Gen LCAT dan Gen LPL	8
2.5 Metode PCR dan Direct Sequencing Analysis	11
<b>III. MATERI DAN METODE</b>	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Materi	14
3.3 Metode	15
3.4 Analisis Data	17



<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	19
4.1	Kajian Keragaman Gen <i>Lecithin Cholesterol Acyl Transferase</i> (LCAT) Menggunakan Metode <i>Direct Sequencing</i> Pada Domba Lokal	19
4.1.1	Pengambilan Sampel dan Hasil Ekstraksi DNA	19
4.1.2	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> Gen LCAT Domba Lokal	21
4.2	Kajian Keragaman Gen <i>Lipoprotein Lipase</i> (LPL) Menggunakan Metode <i>Direct Sequencing</i> Pada Domba Lokal	28
4.2.1	Hasil Amplifikasi Gen LPL Domba Lokal	28
4.2.2	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> Gen LPL Domba Lokal	28
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1	Kesimpulan	33
5.2	Saran	33
<b>VI.</b>	<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	35
<b>VII.</b>	<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1. Proporsi Komponen Karkas Pada Beberapa Breed Domba Lokal Indonesia	8
3.1. Primer yang Digunakan dalam Penelitian	15
4.1 Tipe Sekuens Pada Posisi Basa 701 sampai 951 Gen LCAT Domba Lokal Padang	22
4.2 Frekuensi Gen dan Frekuensi Genotipe Gen LCAT Domba Lokal Padang	25
4.3 Nilai Heterosigositas Genotipe Gen LCAT Domba Lokal Padang	25
4.4 Frekuensi Gen, Genotipe dan Nilai Heterosigositas Gen LPL Domba Lokal Padang	30



## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
2.1. Domba Lokal Indonesia	6
2.2. Struktur Gen LCAT Manusia	9
2.3. Gen LPL Ekson dan Intron	10
2.4. Peranan LPL dan LCAT	11
2.5. Proses PCR	12
4.1 Pengumpulan Sampel Darah Domba	20
4.2 Hasil Uji Kualitatif DNA	20
4.3 Hasil Amplifikasi Gen LCAT	21
4.4. Hasil Alignment Gen LCAT Domba Lokal	21
4.5. Hasil BLAST Beberapa Tipe Sekuen Gen LCAT	26
4.6 Hasil Amplifikasi Gen LPL Domba Lokal	28
4.7. Hasil Alignment Gen LCAT Domba Lokal	29
4.8 Hasil BLAST Tiga Tipe Sekuen Gen LPL	31

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Peningkatan konsumsi daging di Indonesia diikuti dengan permintaan masyarakat akan penyediaan daging ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal), ramah lingkungan dan dijamin keberlanjutannya yang memiliki daya saing dan sesuai dengan kebutuhan pasar domestik. Konsumsi daging domba dan kambing di Indonesia masih sangat rendah, yaitu sekitar 5% dari total kebutuhan daging atau setara dengan 0,24 g/kapita/tahun (Inounu 2011). Namun dari data Dirjennak (2008) terungkap bahwa telah terjadi kelebihan produksi daging domba sebesar 1,1 juta sampai 2,7 juta ton per tahun. Potensi ini jika dimanfaatkan, dapat mengisi kekurangan pasokan daging ruminansia yang selama ini masih didominasi oleh daging sapi.

Kualitas lemak menentukan tingkat preferensi masyarakat dalam mengkonsumsi daging domba karena mempengaruhi *flavor*, *juiciness* dan kesehatan tubuh. Kadar kolesterol dan ratio *Saturated Fatty Acid* (SFA) : *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) daging merupakan tolak ukur bagi penyediaan pangan ASUH, memiliki daya saing dan memenuhi kebutuhan pasar domestik. Rendahnya konsumsi daging domba karena harga daging yang relatif tinggi dan berkembang persepsi di masyarakat bahwa daging kambing dan domba memiliki kandungan kolesterol tinggi, kandungan asam lemak jenuh tinggi dan bau khas yang sulit dihilangkan. Konsumsi daging yang mengandung asam lemak jenuh (SFA) tinggi terutama miristat dan palmitat dapat mengakibatkan otot rentan terhadap resistensi insulin sehingga timbul *hiperinsulinemia* atau meningkatkan produksi kolesterol oleh hati (Moibi dan Christopherson 2001). Begitu juga mengkonsumsi daging dengan kandungan kolesterol tinggi berdampak timbulnya *atherosclerosis* atau penebalan pembuluh darah ke jantung. Rasio PUFA : SFA yang



tinggi dan kandungan kolesterol rendah pada daging domba dibutuhkan sebagai pangan fungsional bagi penderita penyakit-penyakit tertentu.

Beberapa penelitian berkaitan dengan usaha memanipulasi kandungan asam lemak dan kolesterol daging domba telah dilakukan melalui pakan (Gabryszuk *et al.* 2007; Joseph 2007; Costa *et al.* 2009; Hausman *et al.* 2009; Gollardo *et al.* 2011; Rusdimansyah 2011; Mas'ud 2012; Zsédely *et al.* 2012), sistem pemeliharaan (Cividini *et al.* 2008; Borys *et al.* 2012), perbedaan bangsa dan jenis kelamin (Cloete *et al.* 2004; Cividini *et al.* 2008) namun belum menunjukkan hasil yang mengembirakan. Ditingkat molekuler, identifikasi keragaman gen penyandi enzim yang berperan dalam pembentukan lemak, distribusi lemak dan kandungan asam lemak daging telah dilakukan pada ayam (Liu *et al.* 2006; Han *et al.* 2009), itik (Yang *et al.* 2012), babi (Kaplanova *et al.* 2010), Yak (Ding *et al.* 2012). Begitu pula identifikasi gen penyandi enzim yang berhubungan dengan kualitas susu seperti kandungan lemak dan komposisi asam lemak, juga telah dilakukan pada susu kambing (Badaoui *et al.* 2007) dan susu domba (Crissa *et al.* 2010; Moiola *et al.* 2012). Namun belum pernah dilakukan penelitian yang berkaitan dengan penelusuran marka genetik penentu kualitas lemak daging pada domba lokal Indonesia.

## 1.1. Perumusan Masalah

Deposisi lemak pada jaringan/otot ditentukan oleh keseimbangan proses yang berlangsung di dalam tubuh meliputi *lipogenic*, *lipolytic*, transpor asam lemak dan jumlah asam lemak yang digunakan. Keseimbangan proses-proses tersebut ditentukan oleh jumlah lemak yang dimakan, *synthesis de novo* asam lemak, sintesis triasil gliserol, degradasi lipid dan proses transpor asam lemak (Zhao *et al.* 2010). Keberadaan dan aktivitas enzim dalam tubuh ternak disandikan oleh

gen penyandi enzim tersebut, diantara enzim yang berperan dalam transpor lemak di dalam tubuh adalah *Lecithin Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) dan *Lipoprotein Lipase* (LPL).

LCAT adalah *soluble enzyme* yang mampu mengkonversi kolesterol dan *lecithin* menjadi ester kolesterol dan *lysophosphatidylcholine* pada permukaan dari *High Density Lipoprotein* (HDL) dan berperan penting dalam metabolisme lipoprotein, terutama dalam proses *reverse cholesterol transport*. Enzim ini disintesis di hati tapi sirkulasinya pada plasma darah sebagai kompleks komponen HDL. Ketiadaan enzim ini menyebabkan akumulasi kolesterol bebas pada jaringan daging dan darah.

LPL merupakan enzim kunci yang berperan utama pada metabolisme dan pengangkutan lipoprotein dalam tubuh. Aktivitas dari enzim LPL pada beberapa bangsa kambing menunjukkan aktivitas yang berbeda dikarenakan adanya keragaman gen penyandi (Badaoui *et al.* 2012; Qin *et al.* 2012)

Identifikasi gen LCAT dan LPL diperlukan dalam rangka mencari penanda genetik yang dapat digunakan sebagai *Marker Assisted Selection* (MAS) untuk menghasilkan dan mengembangkan domba-domba lokal Indonesia yang menghasilkan daging yang aman dikonsumsi dan menyehatkan.

## 1.2. Tujuan

Tujuan dan sasaran penelitian ini adalah (1) ditemukannya SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) pada gen LCAT dan LPL domba lokal (2) mengetahui frekuensi alel/gen dan frekuensi genotipe dan keragaman gen LCAT dan gen LPL pada domba lokal.

## 1.3. Manfaat

Keluaran dari penelitian ini adalah (1) ditemukan penanda genetik penentu kualitas lemak daging domba yang dapat dijadikan sebagai MAS (*Marker Assisted Selection*) dalam



menghasilkan ternak domba yang mampu menghasilkan daging dengan kadar kolesterol optimal dan rasio PUFA dan SFA yang tinggi (2) didapatkan sistem pengelolaan lokal (*indigenous knowledge*) sumberdaya genetik yang dapat dijadikan model pengembangan domba lokal berbasis masyarakat peternak (3) hasil yang diperoleh dapat dijadikan dasar pembuatan kebijakan perbaikan mutu genetik domba lokal secara terpadu dan berkelanjutan dalam rangka pembentukan breed domba lokal yang menghasilkan daging dengan kualitas lemak yang menyehatkan (4) dapat meningkatkan konsumsi daging domba masyarakat melalui kampanye daging domba sehat.

#### 1.4. Kerangka Pikir, Asumsi dan Hipotesis

Dalam upaya mempertahankan, menggali dan mengembangkan potensi sumberdaya genetik domba lokal, langkah awal yang perlu dilakukan antara lain dengan menghimpun informasi, karakterisasi dan identifikasi baik pada performa maupun parameter genetik terutama yang berkaitan dengan sejumlah sifat ekonomis penting. Informasi asal-usul (aliran gen), karakteristik ternak (sifat-sifat produksi dan reproduksi) dan karakteristik populasi merupakan informasi penting yang dibutuhkan dalam pengembangan dan peningkatan produktivitas domba di masa yang akan datang secara nasional.

Deposisi lemak pada jaringan ditentukan oleh keseimbangan proses-proses yang berlangsung di dalam tubuh meliputi *lipogenic*, *lipolitic*, transpor asam lemak dan jumlah asam lemak yang digunakan. Keseimbangan proses-proses tersebut ditentukan oleh jumlah lemak yang dimakan, sintesis *de novo* asam lemak, sintesis triasilgliserol, degradasi lipid dan proses transpor asam lemak (Zhao *et al.* 2010). Transpor asam lemak dalam tubuh domba diantaranya dipengaruhi oleh enzim LPL dan LCAT yang disandikan oleh gen penyandi. Keragaman gen penyandi menyebabkan munculnya keragaman pada fenotip yang diamati.

Pemberian pakan berbasis hijauan pada domba menghasilkan daging dengan sedikit lemak *intramuscular* dengan kandungan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang lebih tinggi dibandingkan ternak yang diberi pakan konsentrat (Hausman *et al.* 2009)

Pembentuk lemak subkutan adalah trigliserida yang disintesa dari asam lemak secara *de novo* atau dari asam lemak dari sirkulasi trigliserida sebagai hasil dari aktivitas enzim LPL. Sintesa dan degradasi lemak menentukan deposisi atau penggunaan lemak subkutan yang mengindikasikan total lemak tubuh atau obesitas (Zhao *et al.* 2010).

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ditemukannya *Single Nucleotida polymorphism* pada gen LCAT dan LPL pada domba lokal Indonesia.

#### 1.5. Jadwal Penelitian

Kegiatan dan Penanggung jawab	Bulan ke						Indikator Kerja
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11	
1. Penentuan sampel penelitian dan pengambilan sampel darah	X						Data sampel darah
2. Isolasi DNA dan Uji kualitatif DNA	X						Mendapatkan DNA yang berkualitas baik
3. Identifikasi Keragaman gen pengontrol kualitas lemak (amplifikasi PCR dan karakterisasi keragaman gen menggunakan metode <i>direct sequencing</i> )		X	X	X			Hasil PCR dan Sekuensing
4. Analisis Data menggunakan software BioEdit, MEGA versi 5.2 dan PopGene.					X		Ditemukannya <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> , frekuensi alel, genotype dan nilai heterosigositas
7. Penulisan Laporan Hasil, makalah Seminar Hasil Penelitian dan Draft makalah untuk publikasi jurnal					X	X	Laporan penelitian serta publikasi jurnal terakreditasi dalam negeri dan atau international.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Karakteristik Domba Lokal Indonesia

Domba lokal yang berkembang di Indonesia dikelompokkan berdasarkan morfologi dan lokasi habitatnya (Sumantri dkk. 2007). Berdasarkan tipe ekor domba dapat dikelompokkan ke dalam 3 kelompok yaitu Domba Ekor Gemuk (DEG), Domba Ekor Tipis (DET) dan Domba Garut. DET merupakan kelompok yang paling banyak dikembangkan di daerah Jawa, terutama di daerah Jawa Barat, hampir 50% populasi domba yang ada di Indonesia berada di daerah ini. Selain dari DET yang dikenal adalah Domba Garut, Domba Jawa Tengah dan Domba Sumatera. DET juga memiliki keistimewaan yaitu adaptif, adanya sifat *prolific* dan dapat beranak sepanjang tahun tidak tergantung musim (Inounu 2011).

Perubahan sifat morfologi pada domba seperti panjang ekor yang digunakan sebagai tempat penimbunan lemak dan perubahan wool menjadi bulu kasar merupakan adaptasi terhadap lingkungan. Populasi yang besar dengan tingkat keragaman yang cukup tinggi, baik dalam bangsa maupun antar bangsa, menjadikan domba-domba di Indonesia beragam bentuk dan polanya (Suparyanto dkk. 1998).

Domba lokal Indonesia dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu Domba Ekor Tipis (DET), Domba Ekor Gemuk (DEG) dan Domba Priangan (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Domba Lokal Indonesia (dari kiri ke kanan Domba Ekor Gemuk, Domba Ekor Tipis dan Domba Garut).



## **2.2. Kandungan Lemak dan Kolesterol Daging Domba**

Lipid berdasarkan sifat fisik didefinisikan sebagai senyawa yang tak larut dalam air yang diekstrak dari organisme hidup menggunakan pelarut yang kepolarannya lemah atau pelarut polar (Piliang dan Djojosoebagio 2006; Ngili 2010). Lemak secara fungsional dalam tubuh ternak diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu lipid struktural merupakan bagian integral dari struktur sel dan jaringan (*Brown Adipose Tissue, BAT*) serta depot lemak sebagai cadangan energi (*White Adipose Tissue, WAT*) (Leat 1983; Lawrence & Fowler 2002). Perbedaan mendasar antara BAT dan WAT adalah ada atau tidaknya protein mitochondrial pada membran mitochondria dari sel jaringan adipose. Jika ditemukan protein mitochondria dikatakan sebagai BAT dan jika tidak dijumpai disebut dengan WAT (Lawrence & Fowler 2002).

Kandungan bahan kering lemak tubuh ternak terdiri dari lebih 90% lemak dan 5% protein. Komponen utama penyusun lemak adalah trigliserida (90-98%), digliserida (1-2%), fosfolipid (0,25%) dan kolesterol (0,25%) (Leat 1983; Aberle *et al.* 2001) serta kandungan lemak yang larut pada vitamin A,D, E dan K. Jumlah lemak daging adalah sejumlah lemak yang terdapat di antara dan di dalam serabut otot dan sejumlah lemak eksternal yang tersisa setelah *cutting* dan *trimming*. Nilai kalori lemak daging ditentukan oleh kandungan asam lemak dalam bentuk trigliserida dan fosfolipid (Aberle *et al.* 2001).

## **2.3. Hubungan Kualitas Daging dengan Kandungan Lemak Daging Domba**

Komponen utama karkas terdiri atas jaringan otot, tulang dan lemak. Kualitas karkas sangat ditentukan oleh ketiga komponen tersebut. Tulang merupakan komponen karkas yang tumbuh dan berkembang paling awal (*early maturing tissue*), disusul otot dan terakhir komponen lemak (*late maturing tissue*) (Aberle *et al.* 2001; Lawrie 2003). Di antara ketiga

komponen karkas tersebut lemak memberikan nilai ekonomis karena berfungsi sebagai pembungkus daging dan memberikan keempukan (Berg & Butterfield 1976).

Proporsi jaringan otot dan tulang berbanding terbalik dengan peningkatan umur, dimana seiring dengan peningkatan umur ternak, komposisi daging dan tulang menurun sedangkan pada lemak terjadi peningkatan (Lawrie 2003). Depot lemak tubuh juga meningkat seiring peningkatan bobot karkas dan bobot potong, dimana domba yang lebih berat umumnya lebih berlemak daripada domba yang ringan (Safdarian *et al* 2008). Deposit lemak pada hewan muda dengan nutrisi cukup, muncul di daerah *visceral*, *subcutan*, *intermuscular* dan *intramuscular* (Soeparno 2011).

Proporsi komponen karkas dan potongan karkas yang dikehendaki konsumen adalah karkas atau potongan karkas yang terdiri atas proporsi daging tanpa lemak (*lean*) yang tinggi, tulang yang rendah dan lemak yang optimal (Natasasmita 1978). Proporsi komponen karkas pada domba lokal Indonesia dirangkum pada Tabel 2. Perbedaan *breed* mempengaruhi persentase komposisi karkas yang dihasilkan.

Tabel 2.1. Proporsi komponen karkas pada beberapa breed domba lokal Indonesia

Breed	Karkas (%)	% Komponen Karkas			Sumber
		Otot	Tulang	Lemak	
Priangan (25 kg)	48,80	62,28	17,05	18,67	Herman (2002)
Priangan (38,83 kg)	57,20	61,70	22,40	15,70	Zubir (2012)
DEG (25 kg)	52,73	53,55	15,50	29,30	Herman (2002)
DET (25,45 kg)	39,06	69,03	9,71	9,71	Rianto (2006)

#### 2.4. Gen LCAT dan Gen LPL

Deposisi lemak pada jaringan ditentukan oleh keseimbangan proses-proses yang berlangsung di dalam tubuh meliputi *lipogenic*, *lipolitic*, transpor asam lemak dan jumlah asam lemak yang digunakan. Keseimbangan proses-proses tersebut ditentukan oleh jumlah lemak

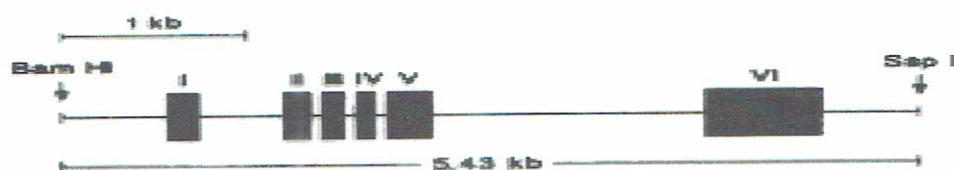


yang dimakan, sintesis *de novo* asam lemak, sintesis triasilgliserol, degradasi lipid dan proses transpor asam lemak (Zhao *et al.* 2010).

Gen LCAT adalah enzim pusat dalam metabolisme ekstraseluler dari plasma lipoprotein. Disintesis di hati dan disekresikan ke dalam plasma yang mampu mengkonversi kolesterol dan fosfatidilkolin (lecithin) menjadi ester kolesterol dan lisofosfatidilkolin (lisolecithin) pada permukaan HDL (Adiwijono dan Asdie 1993; Schickel 2005; Kaplanova *et al.* 2010; Crisa *et al.* 2010).

LCAT (*lecithin cholesterol acyltransferase*) adalah *soluble enzyme* yang mampu mengkonversi kolesterol dan lecithin menjadi ester kolesterol dan lisolecithin pada permukaan dari HDL (*High Density Lipoprotein*) dan berperan penting dalam metabolisme lipoprotein, terutama dalam proses *reverse cholesterol transport*. Enzim ini disintesa di hati tapi sirkulasinya pada plasma darah sebagai kompleks komponen HDL dan ketiadaan enzim ini menyebabkan akumulasi kolesterol bebas pada jaringan/daging dan darah (Kaplanova *et al.* 2010).

Gen LCAT ditemukan pada bagian tangan panjang (*long arm*) kromosom ke 16 pada posisi 22.1 dari 67,973,786 hingga 67,978,014 bp. Gen LCAT terdiri atas 6 ekson dan 5 intron (Gambar 3).



Gambar 2.2 Struktur gen LCAT Manusia (Francone 1995)

LPL adalah enzim kunci yang berperan utama pada metabolisme dan transport lipoprotein serta memberikan pengaruh penting pada level trigliserida darah (Wung *et al.*



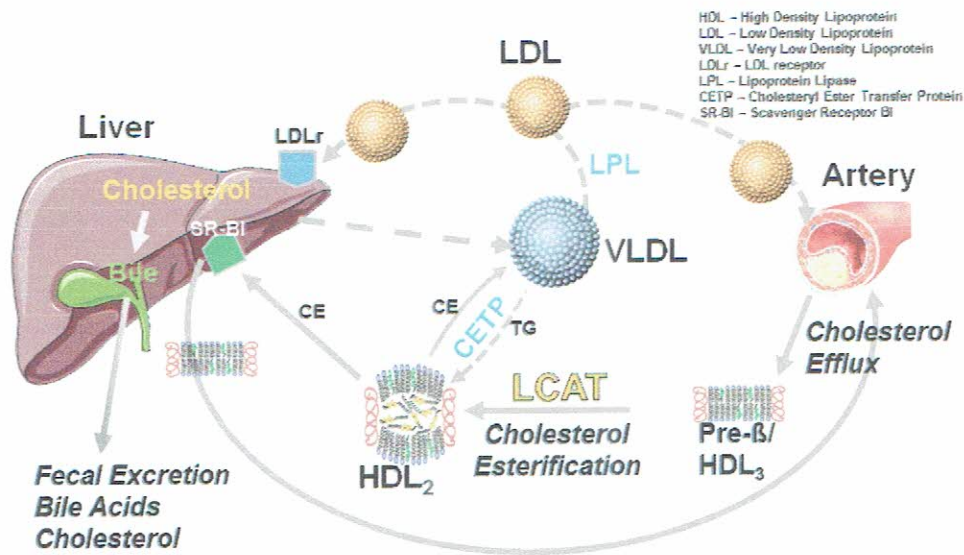
2006). Lipoprotein merupakan kompleks protein-lipid dalam darah yang terdiri atas tiga tipe: LDL, HDL dan VLDL (Bender 1992; Bandara 1997). Pembentuk lipoprotein seperti kolesterol dan trigliserida juga mempengaruhi laju sintesis kolesterol dan asam lemak pada jaringan. Apolipoprotein merupakan komponen esensial dalam mempertahankan struktur lipoprotein dan apolipoprotein tertentu bertindak sebagai kofaktor untuk integrasi enzim pada metabolisme lipid dan mediasi pengikatan lipoprotein pada jaringan tubuh yang dituju (Etherton dan Etherton 1982). Struktur gen LPL dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 2.3. Gen LPL ekson dan intron (Sumber: Kirchgeßner 1989).

Hubungan peranan LPL dan LCAT terhadap kadar kolesterol dalam tubuh ternak dijelaskan Gambar 5. Keseimbangan kolesterol dalam jaringan tubuh dapat meningkat atau menurun. Perubahan keseimbangan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor. Peningkatan terjadi karena 1) pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor seperti LDL; 2) pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor yang tidak di antarai reseptor; 3) pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya akan kolesterol oleh membrane sel; 4) sintesis kolesterol; 5) hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolesterol hidrolase. Penurunan kadar kolesterol dapat disebabkan oleh 1) aliran keluar kolesterol dari membrane sel ke lipoprotein dengan potensial kolesterol rendah, khusus HDL nasen yang digalakkan oleh enzim LCAT; 2) esterifikasi kolesterol oleh ACAR (Asil-CoA: kolesterol acsitransferase); 3) penggunaan kolesterol untuk sintesis senyawa-senyawa steroid lainnya seperti hormon atau asam-asam empedu dalam hati (Murray *et al.* 1990).

## LCAT Drives Cholesterol Elimination



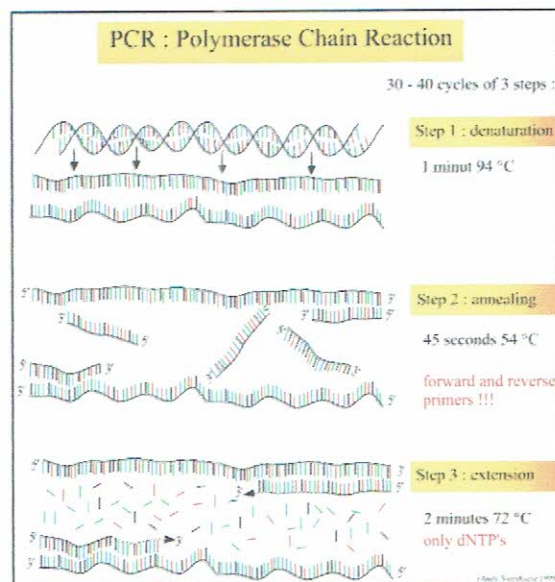
Gambar 2.4. Peranan LPL dan LCAT terhadap kadar kolesterol dalam tubuh ternak ruminansia (Sumber: <http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/lipoprot/index.htm>).

### 2.5. Metode PCR dan *Direct Sequencing Analysis*

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesa molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA tersebut dengan enzim polymerase dan oligonukleotida pendek sebagai primer dalam mesin *thermocycle*. Metode ini berjalan secara enzimatik melalui mekanisme perubahan suhu (Muladno 2002; Fachtiyah dkk. 2011).

Proses yang terjadi dalam mesin PCR terdiri tiga tahap utama yaitu denaturasi (pemisahan untai ganda DNA), *annealing* (penempelan primer) dan ekstensi. Proses dari mulai denaturasi, penempelan dan ekstensi disebut sebagai satu siklus. Produk PCR dapat langsung divisualisasikan melalui proses elektroforesis dan dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut (Muladno 2002).

Metoda PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula, sekitar  $10^6$ - $10^7$  kali. Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya. Pada setiap siklus PCR akan diperoleh  $2^n$  kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan non-target (Gambar 5) (Fachtiyah dkk. 2011)



Gambar 2.5. Proses PCR

Analisis sekuen merupakan suatu teknik yang dianggap paling baik untuk melihat keanekaragaman hayati suatu kelompok organisme. Teknik ini berkembang setelah orang menciptakan mesin *DNA sequencer*. Pada prinsipnya polimorfisme dilihat dari urutan atau sekuen DNA dari fragmen tertentu dari suatu genom organisme (Suryanto 2008). *Sequencing* merupakan proses penentuan urutan nukleotida pada suatu fragmen DNA atau RNA. *Sequencing* menghasilkan penggambaran linear simbolik yang disebut sekuens yang meringkas sebagian besar struktur tingkat atom atas molekul yang disekuensing. *Sequencing*



DNA akan menghasilkan sekuens DNA yang digambarkan sebagai untaian abjad lambang nukleotida-nukleotida penyusun DNA (Muladno 2002).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Pengambilan sampel darah domba dilakukan bulan Oktober tahun 2012 di Kecamatan Koto Tengah Kota Padang dan amplifikasi fragmen gen LCAT dan LPL dilaksanakan bulan Maret 2013 sampai Juli 2013 di Laboratorium Genetika Molekuler Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan IPB Bogor. Analisis sekuensing dilakukan bulan Agustus 2013 di Laboratorium 1<sup>st</sup> Base DNA Sequencing Singapore.

#### 3.2 Materi

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel darah 50 Domba Ekor Tipis Kota Padang, bahan-bahan pereaksi untuk isolasi DNA, bahan-bahan visualisasi dan karakterisasi DNA hasil isolasi, bahan-bahan pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA dan bahan-bahan untuk visualisasi DNA hasil PCR dan analisis hasil PCR menggunakan metode *direct sequencing*.

Bahan dan alat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah jarum *venoject*, tabung *vacutainer*, ethanol absolut (96%), alkohol 70% dan kapas .

Bahan-bahan pereaksi untuk isolasi DNA terdiri atas DW (*Dilution Water*), *buffer lysis sel* terdiri atas SDS (*Sodium dodesil sulfat*) 10%, dan 1 x STE (*Sodium Tris EDTA*). Pemurnian DNA dari ekstrak sel menggunakan *fenol chloroform*, CIAA (*Chloroform Isoamyl alcohol*) dan *Proteinase-K*. Pemekatan, pemisahan dan pengendapan DNA dari molekul RNA dan protein menggunakan 5 M NaCl dan etanol absolut. Presipitasi akhir DNA menggunakan ethanol 70%. Tris EDTA 80% digunakan sebagai pelarut DNA (*elution buffer*).

Bahan-bahan visualisasi dan karakterisasi DNA hasil isolasi adalah gel agarose 1,5% (0,525 gram agarose + 35 ml dalam 0,5 x buffer Tris-asam borat (TBE), *ethidium bromide*, *loading dye* dan marker (100 bp). Bahan-bahan pereaksi PCR untuk amplifikasi DNA



menggunakan *Dream Tag Green PCR Master Mix Thermo scientific* yang terdiri dari 2X Dream Tag Green buffer, dATP, dCTP, dGTP dan dTTP masing-masing 0,4 mM dan 4 mM MgCl<sub>2</sub>. Primer yang digunakan dirancang sendiri menggunakan (Tabel 3.1) menggunakan software <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>

Tabel 3.1 Primer yang digunakan dalam penelitian

Gen	Primer	Ukuran (basa)	Panjang Product (bp)	Tm (°C)
LCAT	F'5 GAGCAGCGCATGACGACAACG R'5 AGGTGCTAGGAGTGGGCAGGC	21	250	60
LPL	F'5 AAACCTGCCGCTTCTAGCTC R'5 TCTTGTAATCCTGTCGGCGG	20	260	58

Alat-alat yang digunakan tabung eppendorf, pipet, tip, sentrifus, timbangan analitik, vorteks, *rotary shaker*, oven, *horizontal agarose gel electrophoresis apparatus*, *well forming combs*, *power supply*, *microwave*, *autoclave*, *magnetic stirrer*, *UV transiluminator*, mesin PCR *thermal cycler*.

### 3.3 Metode

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu (1) pengambilan sampel darah di lapangan, (2) ekstraksi DNA total (3) visualisasi dan karakterisasi DNA hasil isolasi (4) amplifikasi DNA menggunakan mesin *PCR thermocycler* (5) visualisasi pita DNA menggunakan *direct sequencing analysis*.

#### 3.3.1 Teknik Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah sebanyak 2 ml, dilakukan melalui *vena jugularis* dengan menggunakan *jarum venoject* dan tabung *vacutainer* yang selanjutnya ditambahkan ethanol absolut ( 96% ) perbandingan 1: 1 untuk menghindari kerusakan sel-sel darah dan disimpan pada suhu ruang.

### 3.3.2. Ekstraksi DNA, Visualisasi dan Karakterisasi DNA Hasil Isolasi

Ekstraksi DNA genom dilakukan dengan metode *phenol-chloroform* berdasarkan Sambrook *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi. Kualitas DNA hasil isolasi dievaluasi menggunakan elektroforesis pada gel agarose 1,5 % selama 20 menit pada voltase 100 volt. Visualisasi dan karakterisasi menggunakan UV-transiluminator. Jika pita yang terbentuk tebal dan bersih langsung disimpan sebagai dokumentasi sedangkan jika pita yang terbentuk tipis atau kotor maka tabung stock DNA tersebut dibuang dan isolasinya diulang kembali. Ada tidaknya DNA dapat diperkirakan dengan cara melihat posisi DNA sampel terhadap DNA marker.

### 3.3.3. Amplifikasi Gen LCAT dan LPL Menggunakan Metode PCR

Sampel DNA dari masing-masing individu digunakan sebagai cetakan untuk mengamplifikasi lokus gen LCAT dan LPL melalui reaksi PCR menggunakan masing-masing primer. Larutan mix yang dibuat terdiri atas 10 pg – 1 µg DNA template, 0.1 – 1.0 µM primer (forward + reverse), 12.5 µl *Dream Tag Green PCR Master Mix* dan *water nuclease-free* hingga 25 µl. Kondisi mesin PCR untuk amplifikasi gen LCAT adalah dimulai dengan suhu denaturasi awal 95 °C selama 5 menit, diikuti 35 siklus yang terdiri denaturasi 95 °C selama 45 detik, *annealing* 62 °C selama 45 detik, ekstensi suhu 72 °C selama 1 menit dan diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 5 menit menggunakan mesin PCR *thermo cycler*. Amplifikasi ruas gen LPL dimulai dengan suhu denaturasi awal 95 °C selama 5 menit, diikuti 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 95 °C selama 45 detik, *annealing* 58 °C selama 1 menit, ekstensi suhu 72 °C selama 1 menit dan diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 5 menit menggunakan mesin PCR *thermo cycler* (*GeneAmp Aystem 9700 Applied Biosystem dan Master Cycler Personal 22331 Eppendorf*).



Keberhasilan amplifikasi PCR dilihat pada gel agarose 1.5 %, selanjutnya produk PCR dengan hasil pita yang tebal dan jelas dimasukan kedalam *well plate* lalu disealing dan dikirim ke Laboratorium 1<sup>st</sup> Base DNA Sequencing Singapore

#### **3.3.4. Metode *Direct Sequencing***

Analisis sekuen untuk mengetahui urutan nukleotida dengan tepat, dilakukan di Laboratorium 1<sup>st</sup> Base DNA Sequencing Singapore dengan menggunakan *Applied Biosystem type 9700*. *Direct sequencing* terhadap fragmen gen LCAT dan LPL dilakukan menggunakan primer forward dan reverse dan sebelum disekuen produk PCR harus terlebih dahulu dipurifikasi. Kit cycle sekuensing yang digunakan adalah Big Dye\*Terminator Version 3.1 (*Applied Biosystems*), dengan total volume 20 µl yang mengandung 20 ng produk PCR. Pada setiap tabung reaksi PCR berisi 8 µl *Big Dye terminator ready reaction mix* (campuran dNTP, ddNTP, bufer, enzim, dan MgCl<sub>2</sub>), 8 µl air *milliQ*, 2 µl masing-masing primer forward atau reverse, dan 2 µl *template* DNA. Selanjutnya tabung divortex sebentar, disentrifugasi selama 10 detik dan dilakukan reaksi sekuen di mesin PCR (*Thermal Cycler Applied Biosystems type 9700*). Setelah proses selesai, produk PCR (reaksi sekuen) dipurifikasi dengan menggunakan AMPure\*PCR.

#### **3.3.5. Analisis Data**

Sekuen DNA gen LCAT dan LPL hasil sekuensing dianalisis menggunakan program BioEdit (*viewing* dan *editing*) dan *alignment* menggunakan program MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) versi 5.2 dengan metode *alignment Clustal W* (Tamura *et al.*, 2008) untuk menentukan SNP, diversitas nukleotida, diversitas haplotipe dan diversitas asam amino. Frekuensi alel, genotipe dan nilai heterosigositas dianalisis menggunakan program PopGene32 versi 1.31 (Yeh *et al.* 1999) menggunakan rumus berdasarkan (Nei, 1987) :

$$X_i = \frac{2n_{ii} + \sum n_{ij}}{2N}$$

$$X_{ii} = \frac{n_{ii}}{N} \times 100\%$$

Frekuensi genotipe dianalisis menggunakan rumus kesetimbangan Hardy Weinberg yaitu :

$$\chi^2 = \left[ \sum_{i=1}^n (O - E)^2 \right] / 2$$

Keterangan :

$\chi^2$  = Uji chi-square

O = Total genotipe yang diamati ke-i

E = Total genotipe yang diharapkan ke -i



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

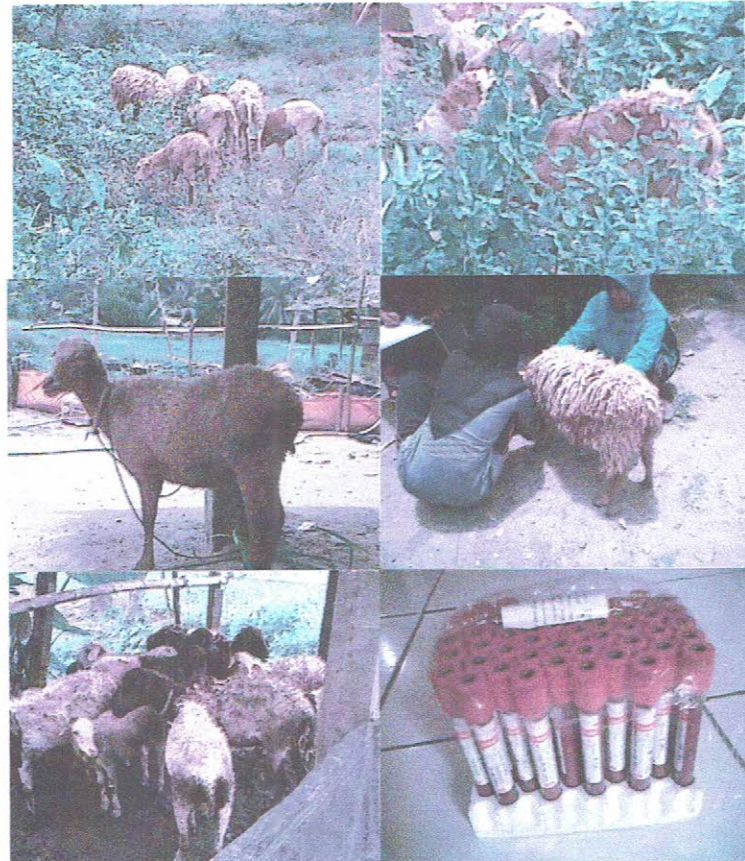
### PENELITIAN TAHAP I

#### 4.1 Kajian Keragaman gen LCAT (*Lecithin Cholesterol Acyl Transferase*) Menggunakan Metode *Direct Sequencing* Pada Domba Lokal

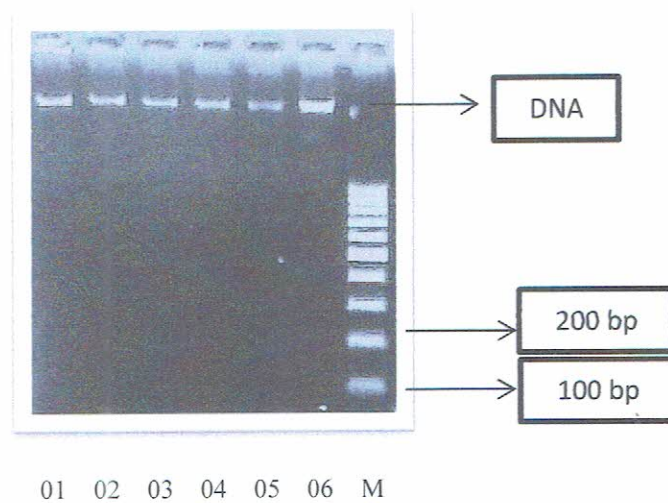
##### 4.1.2 Pengambilan Sampel dan Hasil Ekstraksi DNA

Darah dari 50 ekor domba lokal (Gambar 4.1) berhasil diambil melalui *vena jugularis* dan ekstraksi DNA berhasil dilakukan menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi. Uji kualitatif DNA dilakukan menggunakan elektroforesis pada gel agarose 1.5%. Hasil uji menunjukkan bahwa DNA yang dihasilkan berkualitas baik yang dapat dilihat dengan hasil pita yang jelas dan tebal (Gambar 4.2). Konsentrasi DNA dapat diketahui melalui uji kualitatif dan uji kuantitatif. Uji kualitatif dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarose sedangkan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri. Konsentrasi DNA yang baik akan mempengaruhi hasil amplifikasi PCR ruas gen yang akan diamati keragamannya.

Gen LCAT ekson 6 berhasil diamplifikasi pada 49 sampel DNA dengan panjang 250 bp (Gambar 4.3). Amplifikasi berlangsung pada suhu *annealing* 62<sup>0</sup>C. Keberhasilan amplifikasi hasil PCR dapat dilihat dari pita yang dihasilkan jelas dan tebal serta terletak pada posisi yang diinginkan (250 bp), diketahui dengan membandingkan dengan marker 100 bp.

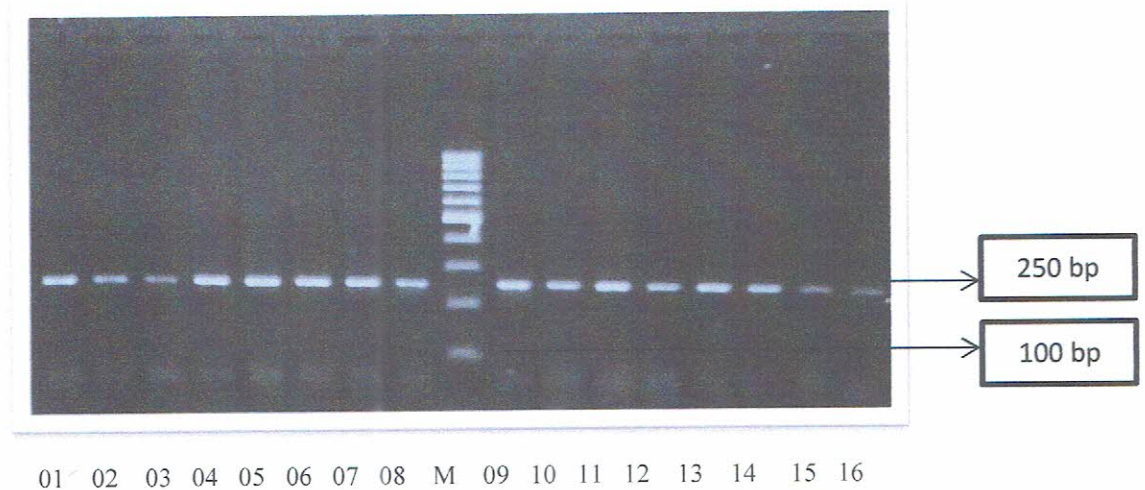


Gambar 4.1 Pengumpulan sampel darah domba



Gambar 4.2 Hasil Uji Kualitatif DNA. M = Marker 100 bp. 1-6 = nomor sampel





Gambar 4.3 Hasil Amplifikasi gen LCAT dengan Panjang 250 bp. M = Marker 100 bp. 1-16 = nomor sampel.

#### 4.1.2 Single Nucleotide Polymorphism Gen LCAT Domba Lokal

Hasil alignment 49 sampel DNA domba lokal ruas gen LCAT ekson 6 dengan Gene Bank nomor akses GQ 150556.1, ditemukan 4 titik mutasi yaitu c.742 C>T, c.770 T>A, c.771>A dan c.883C>T (Gambar 4.1). Kombinasi dari 4 titik mutasi membentuk 7 tipe sekuen yaitu tipe A,B,C,D,G,I dan J (Gambar 4.4). Distribusi jumlah ternak dengan tipe sekuen yang berbeda dapat dilihat pada tabel 4.4



Gambar 4.4 Hasil alignment gen LCAT ekson 6 domba lokal

Tabel 4.1 Tipe sekuens pada posisi basa 701 sampai 951 ekson 6 gen LCAT Domba Lokal Kota Padang

Tipe Sekuen	Posisi Basa				n	%
	742	770	771	883		
O. aries_ GQ 150556.1	CC	TT	-	CC		
A	CC	TT	-	CC	32	65,31
B	CC	AT	-	CC	5	10,20
C	CC	TT	-	CT	3	6,12
D	CC	TT	AA	CC	5	10,20
G	CT	TT	-	CC	1	2,04
I	TT	TT	-	CC	2	4,08
J	TT	AT	-	CC	1	2,04
				Jumlah	49	100

Keterangan : n = jumlah individu ternak

Tipe sekuens yang paling banyak ditemukan adalah tipe A (65,31%), diikuti tipe B dan D (10,20%), tipe C (6,12%), tipe I (4,08%) dan paling sedikit tipe G dan J (2,04%). Tipe A merupakan tipe yang tidak mengalami mutasi pada keempat lokus yang diamati dan merupakan tipe yang sama dengan GenBank nomor akses GQ150556.1.

Substitusi Cytosine menjadi Thymine pada posisi basa c.742 merupakan *synonymous mutation* yaitu substitusi basa, tidak mengakibatkan terjadinya perubahan asam amino yang terbentuk (Ala>Ala). Substitusi Thymine menjadi Adenine pada basa 770 dan substitusi Cytosine menjadi Thymine pada posisi basa 883 merupakan *non synonymous mutation*, dimana terjadi perubahan asam amino Phenylalanine menjadi Isoleucine (Phe>Ile) dan perubahan asam amino Alanine menjadi Valine (Ala>Val). Terjadinya *non synonymous mutation* akan mempengaruhi struktur dan fungsi dari gen dalam menyandikan asam amino yang berdampak pada fungsi enzyme LCAT tidak bekerja dengan baik atau tidak dihasilkannya enzyme LCAT.



Inseri Adenine pada posisi basa c.771 (c.770-772) membentuk asam amino Tyrosine (Tyr) yang mengakibatkan munculnya *stop codon* atau disebut juga *frameshift mutation*. Mutasi ini dapat mengakibatkan gen tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya sehingga enzyme yang disandikan tidak dihasilkan. Dalam penelitian ini, ditemukan lima individu (10,20%) yang mengalami inseri Adenine.

Mutasi merupakan perubahan permanen pada urutan nukleotida, dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi protein yang terbentuk. Adanya mutasi mengakibatkan munculnya perbedaan sekuens dari fragment DNA yang disekuens yang memunculkan keragaman alel dan keragaman genotipe sehingga memunculkan beberapa tipe sekuens. Perubahan struktur dan fungsi protein yang terbentuk akibat adanya mutasi pada 4 lokus diatas, diduga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis gen LCAT. LCAT merupakan enzyme yang mampu mengkonversi kolesterol dan lecithin menjadi cholesterol ester dan lisolecithin pada permukaan *high density lipoprotein* (HDL) dan memainkan peranan penting pada metabolisme lipoprotein, terutama pada proses *reverse cholesterol transport* (Kaplanova *et al.* 2010). Ketiadaan enzyme ini mengakibatkan terjadinya akumulasi kolesterol bebas dalam jaringan dan darah (Qiao *et al.* 1997). Crissa *et al.* (2010) menemukan 2 titik mutasi pada ekson 6 yaitu pada posisi basa 806 (G>A) dan posisi basa 1075 (T > C). SNP pada c.806 G>A merupakan *non synonymous mutation* (Asp>Asn) yang memberikan efek negatif terhadap rasio asam lemak C18:2 dan C18:3 susu domba (Moioli *et al.* 2011).

Keragaman alel dapat didefinisikan sebagai suatu sekuens yang memiliki perbedaan minimal satu nukleotida sehingga menghasilkan suatu sekuens yang unik yang dapat menghasilkan efek spesifik bagi fungsi dari asam amino yang disandikan.

Frekuensi alel dan frekuensi genotipe dari keempat titik mutasi dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan nilai heterosigositas dapat dilihat pada Tabel 4.6. Pada titik mutasi c.742, frekuensi alel C (92,86%) lebih banyak dibandingkan alel T (7,14%), pada posisi mutasi c.770, alel T (93,885%) lebih banyak dibandingkan alel A (6,12%%) dan pada posisi basa c.883 alel C (96,94%) lebih dominan dibandingkan alel T (3,06%). Pada posisi insersi c.771, frekuensi alel A (10,20%) lebih sedikit dibandingkan alel yang tidak mengalami insersi -/- (89,80%). Alel-alel yang ditemukan pada penelitian ini merupakan alel-alel baru yang tidak ditemukan pada populasi lain sehingga perlu dilakukan kajian mendalam bagaimana ekspresi gen dari masing-masing alel tersebut terhadap sifat-sifat yang berhubungan dengan produktivitas ternak, metabolisme lemak, partisi-partisi lemak dan kualitas lemak yang dihasilkan.

Nilai heterosigositas gen LCAT pada keempat titik mutasi pada domba lokal Indonesia menunjukkan nilai heterosigositas yang rendah dengan kisaran nilai 0,0000 – 0,1224. Nilai heterosigositas dinyatakan tinggi jika di atas 50%. Nilai heterosigositas merupakan ukuran keragaman gen tersebut dalam suatu populasi. Jika dibandingkan dengan nilai heterosigositas harapan ( $H_e$ ), nilai heterosigositas pengamatan ( $H_o$ ) menunjukkan angka yang lebih rendah pada lokus c.742 dan c.771. Pada c.770 menunjukkan angka sedikit lebih tinggi sedangkan pada c.883 nilainya relatif sama. Nilai heterosigositas dapat ditingkatkan dengan meningkatkan jumlah sampel yang diidentifikasi sehingga nilai heterosigositas cenderung akan naik.

Tabel 4.2. Frekuensi Gen dan Frekuensi Genotipe Gen LPL Domba Lokal

	Frekuensi Gen		Frekuensi Genotipe		
	C	T	CC	CT	TT
c.742	0,9286	0,0714	42,2165 (45)	6,5670 (1)	0,2165 (3)
c.770	A	T	AA	AT	TT
	0,0612	0,9388	43,1546(43)	5,6907(6)	0,1546 (0)
c.771	A	-	AA	A/-	-/-
	0,1020	0,8980	0,4639(5)	9,0722 (0)	39,4639(44)
c.883	C	T	CC	CT	TT
	0,9694	0,0306	46,0309(46)	2,9381(2)	0,0309(0)

Tabel 4.3. Nilai Heterosigositas Genotipe Gen LCAT Domba Lokal

	Nilai Heterosigositas		
	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	Nei
c.742	0,0204	0,1340	0,1327
c.770	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	Nei
	0,1224	0,1161	0,1150
c.771	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	Nei
	0,0000	0,1851	0,1833
c.883	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	Nei
	0,0612	0,0600	0,0594

Hasil BLAST beberapa tipe sekuen gen LCAT domba lokal dengan GenBank *Ovis aries* (no. accession CQ.150556.1 dan NM.0011625681), *Capra hircus* (no. accession AY.740597.1) dan *Bos Taurus* (no. accession BC.1124841) menunjukkan adanya 13 titik mutasi (Gambar 4.5).



Ovis\_aries\_G0150556  
Ovis\_aries\_ILM/001162568.1  
Capra\_hircus\_AY740597.1  
Bos\_taurus\_BC\_112484.1  
Tipe\_A  
Tipe\_B  
Tipe\_C  
Tipe\_D  
Tipe\_E  
Tipe\_G  
Tipe\_H  
Tipe\_I  
Tipe\_J  
Tipe\_k

Ovis\_aries\_G0150556  
Ovis\_aries\_ILM/001162568.1  
Capra\_hircus\_AY740597.1  
Bos\_taurus\_BC\_112484.1  
Tipe\_A  
Tipe\_B  
Tipe\_C  
Tipe\_D  
Tipe\_E  
Tipe\_G  
Tipe\_H  
Tipe\_I  
Tipe\_J  
Tipe\_k

Ovis\_aries\_G0150556  
Ovis\_aries\_ILM/001162568.1  
Capra\_hircus\_AY740597.1  
Bos\_taurus\_BC\_112484.1  
Tipe\_A  
Tipe\_B  
Tipe\_C  
Tipe\_D  
Tipe\_E  
Tipe\_G  
Tipe\_H  
Tipe\_I  
Tipe\_J  
Tipe\_k

Ovis\_aries\_G0150556  
Ovis\_aries\_ILM/001162568.1  
Capra\_hircus\_AY740597.1  
Bos\_taurus\_BC\_112484.1  
Tipe\_A  
Tipe\_B  
Tipe\_C  
Tipe\_D  
Tipe\_E  
Tipe\_G  
Tipe\_H  
Tipe\_I  
Tipe\_J  
Tipe\_k

Gambar 4.5. Hasil BLAST Beberapa Tipe Sekuen Gen LCAT dengan GenBank

Kolesterol merupakan lemak yang berbeda dengan lemak yang tergolong trigliserida atau fosfolipid, karena tidak mengandung gliserol melainkan terdiri atas inti steroid yang mengandung satu gugus OH. Kolesterol merupakan senyawa

hidrofobik yang diangkut oleh protein spesifik disebut apoprotein dalam bentuk senyawa lipoprotein. Lipoprotein dibedakan menjadi bagian inti dan permukaan. Bagian inti dibentuk oleh kolesterol ester yaitu ikatan kolesterol dengan asam lemak rantai panjang dan trigliserida sedangkan bagian permukaan dibentuk oleh fosfolipid, kolesterol bebas dan apoprotein (Adiwijono & Asdie 1993; Cheeke & Dierenfeld 2010). Lipoprotein merupakan kompleks protein lipid dalam darah yang terdiri atas tiga tipe yaitu *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Bender 1992; Bandara 1997). Lipoprotein akan mengalami dua jalur yaitu eksogen dan endogen. Jalur eksogen memindahkan lemak dari usus ke hati dan jalur endogen mengatur perpindahan lemak ke jaringan (Guyton 2006) sehingga jumlah kolesterol dan trigliserida tubuh akan mempengaruhi laju sintesis kolesterol dan asam lemak pada jaringan tubuh.

Kolesterol tubuh dapat berasal dari ransum atau sintesis *de novo* yang dikontrol oleh penghambatan umpan balik sterol dari enzim *hydroxymethylglutaryl-CoA reduktase* (HMG-CoA *reduktase*) dan HMG CoA *sintase* (Salter & White 1996). Ditemukannya keragaman gen LCAT ekson 6 pada domba lokal kota Padang diduga kuat akan mempengaruhi produksi dan kerja enzim LCAT yang berperan dalam konversi kolesterol dan lecithin menjadi ester kolesterol dan lisolecithin pada permukaan HDL dan berperan penting dalam metabolisme lipoprotein terutama dalam *reverse cholesterol transport*. Ketiadaan enzim ini dapat menyebabkan akumulasi kolesterol bebas pada jaringan/daging dan darah (Kaplanova *et al.* 2010).

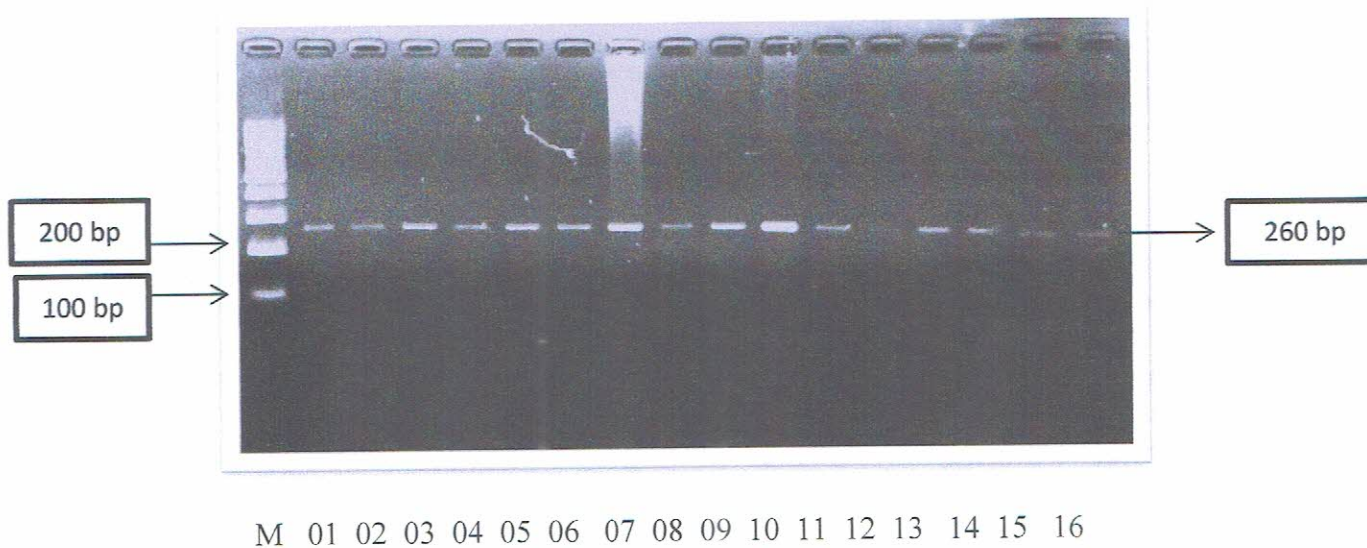


## PENELITIAN TAHAP II

### 4.2 Kajian Keragaman gen LPL (*Lipoprotein Lipase*) Menggunakan Metode *Direct Sequencing* Pada Domba Lokal

#### 4.2.1 Hasil Amplifikasi Gen LPL Domba Lokal

Hasil ekstraksi DNA pada tahap satu digunakan untuk mengamplifikasi gen *Lipoprotein Lipase*. Sebanyak 50 sampel DNA domba lokal berhasil diamplifikasi pada ruas gen LPL dengan panjang 260 bp (Gambar 4.6).



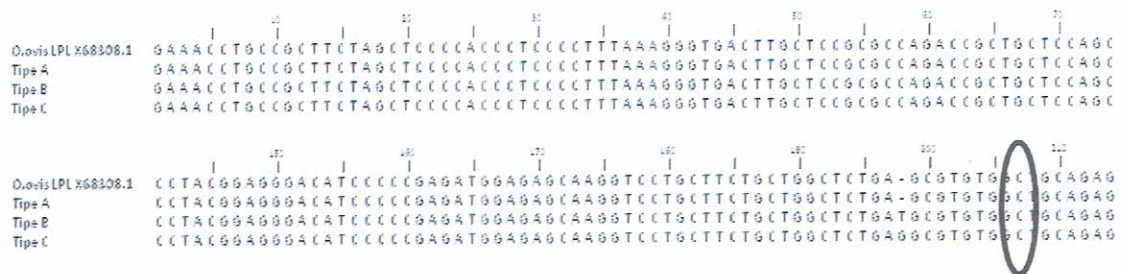
Gambar 4.6 Hasil amplifikasi fragment gen LPL ekson 1 domba lokal

#### 4.2.2 *Single Nucleotide Polymorphism* Gen LPL Domba Lokal

Hasil alignment gen LPL ekson 1 domba lokal Kota Padang dengan sekuens gen LPL ovis aries GenBank *no accession* X68308.1, dimulai basa ke 17 sampai basa ke 277 dengan panjang sekuen 260 bp, ditemukan satu titik SNP yaitu pada posisi basa 213 yaitu terjadi delesi basa Thymine yang mengakibatkan tidak terbentuknya asam amino Methionine (Met) (Tipe A) dan substitusi basa Thymine menjadi Guanine (Tipe C) yang mengakibatkan terjadinya perubahan asam amino



Methionine menjadi Arginine (Met>Arg) (Gambar 4.7). Adanya delesi mengakibatkan tidak terbentuknya asam amino Methionine atau Arginine dapat mengakibatkan perubahan dari struktur dan fungsi gen LPL dalam tubuh sehingga gen tidak dapat menghasilkan enzyme sebagaimana mestinya sehingga mempengaruhi metabolisme lemak dalam tubuh domba.



Gambar 4.7 Hasil alignment gen LCAT ekson 6 Domba Lokal Kota Padang

LPL adalah enzim kunci yang berperan utama pada metabolisme dan transpor lipoprotein serta memberikan pengaruh penting pada level trigliserida darah (Wung *et al.* 2006). Lipoprotein merupakan kompleks protein-lipid dalam darah yang terdiri atas tiga tipe: *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Bender 1992; Bandara 1997). Aktivitas dari enzim LPL pada beberapa bangsa kambing menunjukkan aktivitas yang berbeda dikarenakan adanya keragaman gen penyandi (Badaoui *et al.* 2012; Qin *et al.* 2012)

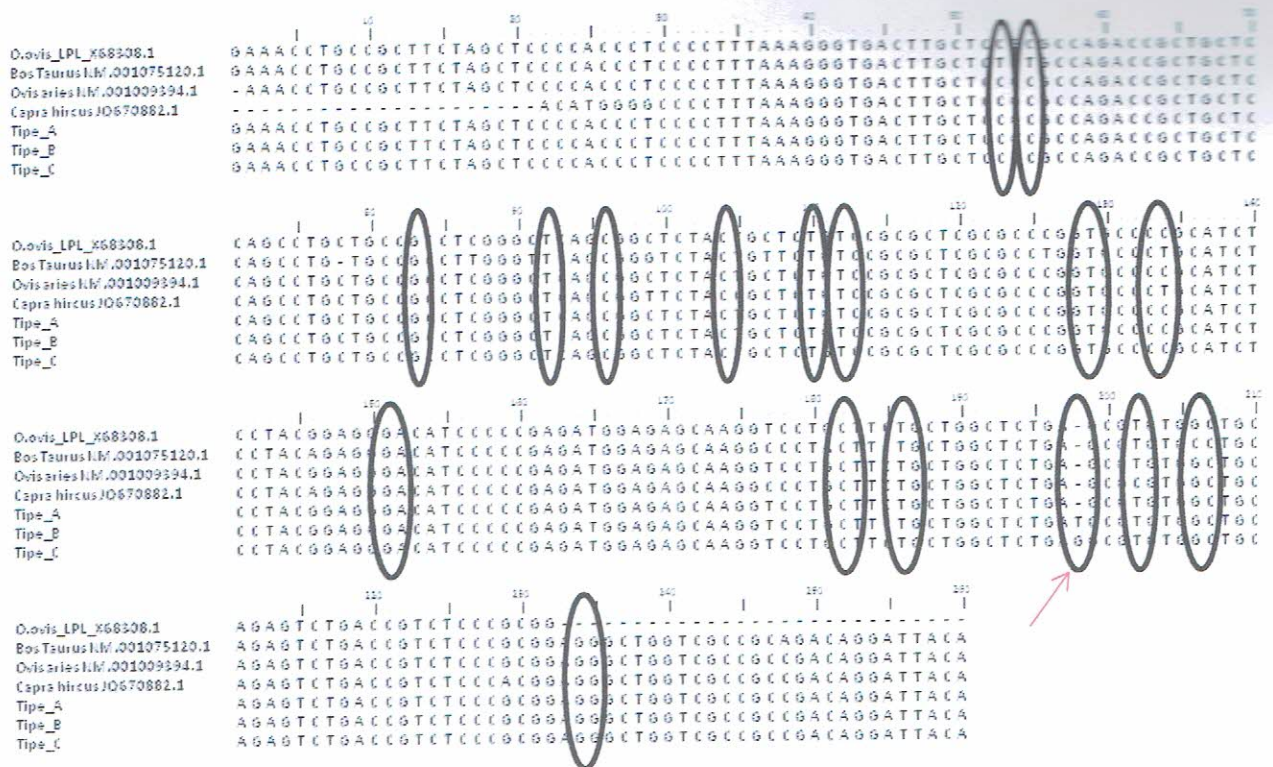
Frekuensi gen yang mengalami delesi paling tinggi yaitu 88% (n=44) diikuti dengan insersi Thymine 10% (n=5) dan Guanine 2% (n=1). Hasil analisis juga menunjukkan tidak ditemukannya keragaman pada posisi basa c.213 ( $H_0 = 0,000$ ) yang menunjukkan bahwa gen dalam keadaan monomorfik (Tabel 4.2).

Tabel 4.3. Frekuensi Gen, Genotipe dan Nilai Heterosigositas Gen LPL Domba Lokal

Frekuensi Gen			Frekuensi Genotipe			Nilai Heterosigositas		
Delesi G/T	G	T	-/-	GG	TT	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	Nei
0,88	0,02	0,1	38,67	0,01	0,45	0,00	0,2174	0,2152

Hasil *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), tipe sekuen A merupakan sekuen yang persis sama (100%) dengan data GenBank nomor akses X.68308.1 dan NM.001009394.1, 97% serupa dengan sekuens dengan nomor akses JQ.670882.1 dan DQ.370053.1 yang merupakan kode sekuen untuk *Capra hircus* dan 95% serupa dengan *Bos Taurus*, nomor akses NM.001075120.1. Tipe A merupakan tipe sekuen *conserve* untuk domba. Tipe sekuen B merupakan tipe sekuen yang mengalami insersi Thymine pada posisi basa c.213, merupakan sekuen yang persis sama (100%) dengan tipe sekuen dengan GenBank nomor akses JF.710638.1 dan memiliki perbedaan satu basa (persentase kemiripan 99%) dengan sekuen GenBank nomor akses X.68308.1 dan NM.001009394.1 dan persentase kemiripan dengan *Bos Taurus* nomor akses NM.001075120.1 sebesar 97%. Tipe C, insersi basa Thymine mengalami substitusi menjadi basa Guanine merupakan sekuen yang persis sama (100%) dengan tipe sekuen dengan GenBank nomor akses JF.710638.1 dan memiliki perbedaan satu basa (persentase kemiripan 99%) dengan sekuen nomor akses X.68308.1 dan NM.001009394.1 dan persentase kemiripan dengan *Bos Taurus* nomor akses NM.001075120.1 sebesar 94%.





Gambar 4.8 Hasil BLAST Tiga Tipe Sekuen Gen LPL Domba Lokal

Hasil penelitian Wang *et al.* (2012) pada sapi Xiangxi, ditemukan 6 SNPs pada gen LPL yang berhubungan dengan sifat-sifat produksi yaitu pada posisi basa c.157C>T, c.169T>C, c.186T>G, c.210A>G, c.348T>A, c.420T>C dan satu SNP c.427A>T sama dengan dilaporkan dbSNP, ID rs 110590698. Lima titik mutasi menunjukkan keragaman yang tinggi yaitu pada posisi basa c.157, c.186, c.348, c.420 dan c.427 dan dua titik mutasi menunjukkan keragaman yang rendah yaitu pada posisi c.169 dan c.210. Keragaman pada gen LPL ini berhubungan dengan sifat-sifat pertumbuhan pada sapi Xiangxi. Hasil penelitian Oh D *et al.* (2013), ditemukan 5 SNPs gen LPL pada posisi basa c.322 G>A, c.329 A>T, c.527 T>G, c.988C>T dan c.1591 G>A. Tiga titik mutasi pada c.322, c.329 dan c.1591 menunjukkan keragaman yang tinggi, dimana individu dengan genotipe AA dari c.322 G>A, c.329 G>A memiliki kandungan *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA) dan sifat-sifat karkas yang lebih baik dibandingkan genotipe lainnya.



Keragaman gen LPL memberikan pengaruh terhadap metabolisme lemak, sifat-sifat produksi dan kualitas lemak susu yang dihasilkan. Beberapa hasil penelitian berkaitan dengan keragaman gen LPL telah dilaporkan. Bonnet *et al.* (2000), aktivitas LPL pada jaringan adipose dan otot jantung domba, dipengaruhi oleh status nutrisi yang berhubungan dengan perbedaan kemampuan hati untuk mensintesis dan mensekresikan asam lemak dalam bentuk trigliserida sebagai pembentuk lipoprotein. Hasil penelitian Crisa *et al.* (2010), ditemukan 3 SNPs pada daerah 3'UTR (*Untranslated Region*) yaitu pada posisi basa c.74 T>C, c.130 T>C dan 133 T> A yang memiliki efek positif terhadap kandungan *Conjugated Linoleic Acid* (CLA) susu domba. Zhao *et al.* (2010) melaporkan bahwa diet tinggi protein dapat meningkatkan ekspresi LPL mRNA dan aktivitasnya pada babi dengan bobot badan 60 kg dibandingkan bobot badan 100 kg. Terjadi penurunan pembentukan trigliserida pada jaringan lemak dengan pakan protein tinggi dihambat oleh ekspresi gen lipogenis. Diet pakan tinggi protein mengatur peningkatan asupan lemak bebas, transport dan perbedaan lipolisis pada tahap pertumbuhan yang berbeda. Keragaman gen LPL pada sapi Bos Taurus (Holstein, Gelbvieh, Angus, Hereford dan Polled Hereford) menggunakan metode PCR RFLP telah dilaporkan oleh Tank *et al.* (2012), dimana ditemukan 2 genotipe yaitu alel A dan alel B. Pada kambing, mutasi yang muncul pada posisi basa c.50 G>C, berhubungan dengan kandungan lemak susu (Badaoui *et al.* 2012). Titik mutasi yang ditemukan pada posisi basa c.213 merupakan titik mutasi baru yang belum ditemukan pada populasi domba lainnya, untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat bagaimana pengaruh keragaman gen pada titik mutasi tersebut terhadap ekspresi gen, sifat-sifat pertumbuhan, deposit-deposit lemak dan kualitas lemak daging domba.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Hasil penelitian memperlihatkan ditemukannya 4 SNP baru pada fragmen gen LCAT ekson 6 populasi domba lokal Kota Padang yaitu pada posisi basa c.742C>T, c.770 T>A, c.771>A dan c.883C>T. Keempat titik mutasi ini membentuk 7 tipe sekuen yaitu tipe A,B,C,D,G,I dan J. Substitusi Cytosin menjadi Thymine pada posisi basa c.742 merupakan *synonymous mutation* (Ala>Ala). Substitusi Thymine menjadi Adenine pada basa 770 dan substitusi sitosin menjadi thymine pada posisi basa 883 merupakan *non synonymous mutation* mengakibatkan perubahan asam amino Phenylalanine menjadi Isoleucine (Phe>Ile) dan perubahan asam amino Alanine menjadi Valine (Ala>Val). Insersi Adenine atau Thymine pada posisi basa 771 (c.770-772) membentuk asam amino Tyrosine (Y) merupakan *frameshift mutation* yang mengakibatkan munculnya *stop codon* tidak ditempat semestinya. Keempat SNPs ini merupakan SNP baru yang tidak ditemukan pada populasi domba lainnya di dunia. Nilai heterosigositas gen LCAT pada keempat titik mutasi pada domba lokal Indonesia menunjukkan nilai heterosigositas yang rendah dengan kisaran nilai 0,0000 – 0,1224 sehingga lokus ini belum mampu dijadikan sebagai penciri genetik untuk populasi domba lokal Kota Padang yang diamati.
2. Ditemukan satu SNP pada posisi c.213>T dari gen LPL, yang mengakibatkan terbentuknya asam amino *Methionine*. Pada satu individu ditemukan mutasi pada posisi basa c.213 T>G yang mengakibatkan berubahnya asam amino yang disandikan yaitu *Methionine* > *Arginine* (*non synonymous mutation*) yang berdampak pada perubahan struktur dan fungsi dari gen LPL. SNP ini merupakan SNP baru yang belum ditemukan pada populasi domba lainnya di dunia.

## **5.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui bagaimana ekspresi gen LCAT dan gen LPL dari beberapa tipe sekuens dan menghubungkannya dengan sifat-sifat pertumbuhan, kualitas karkas dan kualitas lemak daging dan susu domba.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aberle ED, JC Forrest, DE. Gerrard and EW Mills. 2001. *Principles of Meat Science*. Edisi ke-4. USA. Kendall/Hunt Publishing Company.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. *Methods of Analysis*. Maryland, USA: AOAC International.
- Badaoui B., J.M.Serradilla, A.Tomas, B.Urrtia, J.L Ares, J.Carrizosa, A.Sanchez, J.Jordana and M.Amills. 2012. Short communication: Identification of two polymorphisms in the goat lipoprotein lipase gene and their association with milk production traits. *J. Dairy Sci.* 90:3012-3017.
- Bandara ABPA. 1997. Modifying fatty acid composition of bovine milk by abomasal infusion or dietary supplementation of seed oils or fish oils [dissertation]. Blackburg, Virginia USA: Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Bender A. 1992. *Meat and Meat Products in Human Nutrition in Developing Countries*. Rome: FAO.
- Berg RT, Butterfield RM. 1976. *New Concepts of Cattle Growth*. Sydney: Sydney University Press.
- Bishop and Karamichou 2009. *Genetic and Genomic Approaches to Improving Sheep Meat Quality in Improving The Sensory and Nutritional Quality of Fresh Meat*. Kerry and Ledward (Editor). England. Woodhead Publishing. 249-263.
- Borys, B. J. Oprazadek, A. Borys, M. P. Goraczowska. 2012. Lipid profile of intramuscular fat in lamb meat. *Animal Science Papers and Reports* 30(1): 45-56.
- Butterfield R.M. and N.D.S. May. 1966. *Muscles of the Ox*. University of Queensland Press. Australia.
- Cheeke PR and ES Dierenfeld. 2010. *Comparative Animal Nutrition and Metabolism*. Cambridge, USA: CABI Publishing.
- Cividini, A., A. Levartand S. Zgur. 2008. Fatty acid composition of lamb meat as affected by production system, weaning and sex. *Acta agriculturae Slovenica*, supplement 2: 47-52.
- Cloete, J.J.E., L.C. Hoffman, S.W.P. Cloete and J.E. Fourie. 2004. A comparison between the body composition, carcass characteristics and retail cuts of South African Mutton and Dormer Sheep. *South African Journal of Animal Science*. 34(1): 44-51.
- Collier RJ. 1985. Nutritional metabolic and environmental aspects of lactation. Di dalam: Larson BL, editor. *Lactation*. Iowa: Iowa State Univ Press.

- Cooper SL *et al.* 2004. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid content of muscle and adipose tissue in lamb. *J. Anim. Sci.* 82:1461-1470.
- Costa, R.G., A.S.M. Batista, P.S. Azevedo, R.C.R.E. Queiroga, M.S. Madruga and J.T.A. Filho. 2009. Lipid profile of lamb meat from different genotypes submitted to diets with different energy levels. *R. Bras. Zootec.* 38(3): 532-538.
- Crisa *et al.* 2010. Exploring polymorphism and effects of candidate genes on milk fat quality in dairy sheep. *J. Dairy Sci.* 93:3834-3845.
- Dagong, M.I. 2012. Keragaman gen kalpastatin (Cast) dan hubungannya dengan sifat pertumbuhan dan kualitas karkas pada domba local. [Disertasi]. IPB: Bogor.
- Davendra R.V., Mc Leroy G.B. 1992. Sheeps breeds di dalam: ELBS, editor. *Goat and Sheep Production in The Tropics*. England Longman Group. Ltd. Hlm. 118-164.
- Demeyer D, Doreau M. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc Nutr Soc* 58:593-607.
- Ding, X.Z., C.N. Liang, X. Guo, C.F. Xing, P.J. Bao, M. Chu, J. Pei, X.S. Zhu and P. Yan. 2012. A novel single nucleotide polymorphism in exon 7 of LPL gene and its association with carcass traits and visceral fat deposition in yak (*Bos grunniens*) steers. *Mol Biol Rep* 39:669-673.
- [Dirjennak]. 2008. Roadmap perbibitan ternak. Departemen Pertanian: Jakarta.
- Fachtiyah, ELA Rumingtyas, S Widyarti, S Rahayu. 2011. *Biologi Molekular*. Jakarta: Erlangga.
- Gabryszuk, M., M. Czauderna, A. Baranowski, N. Strzalkowska, A. Jozwik and J. Krzyzewski. 2007. The effect of diet supplementation with Se, Zn and vitamin E on cholesterol, CLA and fatty acid contents of meat and liver of limbs. *Animal Science Papers and Reports* 25(1): 25-33.
- Gallardo, M.A., R. Pulido and C. Gallo. 2011. Fatty acid composition of *Longissimus dorsi* muscle of Suffolk down lambs fed on different dryland forages. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71(4): 566-571.
- Han, G., H. Liao, X. Liu, J. Zhang and M. Ni. 2009. Study on the fat-related genes of chicken. *CCSE International Journal of Biology* 1(1): 41-44.
- Harfoot CC, Hazlewood GP. 1988. Lipid metabolism in rumen. Di dalam: Hobson PN, editor. *The Rumen Microbial Ecosystem*. London: Elsevier Science.
- Hausman GJ, *et al.* 2009. Board-invited review: the biology and regulation of preadipocytes and adipocytes in meat animal. *J Animal Sci* 87: 1218-1246.
- Inounu, I., Soebandriyo, Thomas N, Sitorus P, Bell M. 1986. Lambing characteristic of Javanese thin-tailed village ewes at Cicadas: experimentation and under village condition. *J Ilmu Peternakan* 2(1): 79 – 82.



- Inounu, I. 2011. Pembentukan domba komposit melalui teknologi persilangan dalam upaya peningkatan mutu genetic domba lokal. *J Pengembangan Inovasi Pertanian* 4:218 -230.
- Joseph G. 2007. Suplementasi sabun kalsium dalam pakan ternak ruminansia sebagai sumber energi alternatif untuk meningkatkan produksi daging yang berkualitas. [Disertasi]. Bogor: IPB.
- Kaplanova K, *et al.* 2010. Single Nucleotide Polymorphisms in LCAT, HMGCR, CTSZ and TCF7L2 genes with influence on meat quality traits in Czech Large White Pigs. *Mendelnet*.
- Lawrie RA. 2003. *Ilmu Daging*. Parakkasi, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- Lawrence and Fowler. 2002. *Growth of Farm Animals*. Edisi ke-2. UK: CABI Publishing.
- Leat WMF. 1983. The pools of tissue constituents and products: adipose tissue and structural lipids di dalam *Dynamic Biochemistry of Animal Production*. PM Riis (Editor). Amsterdam Australia: Elsevier.
- Liu R, Y Wang, D Sun, Y Yu and Y Zhang. 2006. Association between polymorphisms of lipoprotein lipase gene and chicken fat deposition. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19(10): 1409 - 1414
- Mason IL. 1980. *Prolific Tropical Sheep*. Roma: FAO.
- Mas'ud, M.S. 2012. Produksi, sifat fisik dan sifat kimia daging domba yang diberi ransum mengandung limbah udang [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Miller 1994. *Quality Characteristics in Muscle Foods*. Editor Kinsman *et al.* New York: Chapman & Hall.
- Moibi JA and Christopherson RJ. 2001. Effect of environmental temperature and a protected lipid supplement on the fatty acid profile of ovine longissimus dorsi muscle, liver and adipose tissues. *Livest Prod Sci* 69:245-254.
- Moioli, B., G. Contarini, L. Pariset, C. Marchitelli, A. Crisa, G. Catilo and F. Napolitano. 2012. Genetic variation of C18:1 and C18:2 isomers in sheep milk fat. *Small Ruminant Research* 103: 187-193.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetik*. Pustaka Wira Usaha Muda. Bogor.
- Mulliadi, D.N. 1996. Sifat fenotipik Domba Priangan di Kabupaten Pandeglang dan Garut. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Mulyaningsih N. 1990. Domba Garut sebagai plasma nutfah ternak di dalam : Adioemarto S (Editor). *Plasma Nutfah Hewan Indonesia*. Bogor: Komisi Pelestarian Plasma Nutfah Nasional.

- Natasasmita A. 1978. Body composition of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*): a study of development growth and sex differences [PhD Thesis]. Melbourne: University of Melbourne.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Colombia University Press.
- Oh D *et al.* 2013. Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the Lipoprotein Lipase (LPL) gene associated with fatty acid composition in Korean cattle. *Mol Bio Rep.* 40(4):3155-63
- Piliang dan Djojosoebagio. 2006. *Fisiologi Nutrisi Volume 1*. Bogor: IPB Press.
- Qiao *et al.* 2010. Molecular characterization expression profile and association analysis with carcass traits of porcine LCAT gene. *Molecular Biology Report* 37: 2227-2234
- Qin, Y., Y.Zhang, Y.Yin, Feng Xu, Bo Gao, Q.Shi. C.Zhu, W.Lei and Bichum Li. 2012. Cloning of Xuhuai goat lipoprotein lipase gene and the preparation of transgenic sheep. *Mol Bio Rep* 39:8439-8446.
- Rusdimansyah. 2011. Profil perlemakan karkas domba ekor gemuk dan domba ekor tipis dengan penggunaan ekstrak *Eurycoma longifolia* Jack (ELJ)[Tesis]. Pascasarjana IPB. Bogor.
- Sambrook J, EF Fritsch and T Maniatis. 1989. *Molecular Clonning: A laboratory manual*. Edisi ke-2 . USA:Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Soeparno. 2011. *Ilmu Nutrisi dan Gizi Daging*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sumantri,C., A.Einstiana, J.F.Salamena and I.Inounu. 2007. Keragaan dan hubungan phylogenic antar domba lokal di Indonesia melalui pendekatan analisis morfologi. *J.Ilmua Ternak dan Veteriner* 12: 42-54.
- Tiesnamurti B. 1992. Alternatif pemilihan ternak ruminansia kecil untuk wilayah Indonesia bagian Timur. Prosiding Lokakarya Potensi Ruminansia Kecil di Indonesia Bagian Timur, Mataram, Lombok, NTB. Bogor 17 – 18 Juni 1991. Bogor. Balitnak. 79-86
- Wang *et al.* 2012. Genetic polymorphisms of Lipoprotein Lipase gene and their associations with growth traits in Xiangxi cattle. *Mol Bio Rep.* 39(12):10331-8.
- Yang, Y., P. Gong, Shijun Li, X.Peng, Y. Feng and Y.Gong. 2012. New SNPs of the duck LPL gene are associated with body weight, fatness and carcass traits. *J Anim Vet Adv* 11(5): 578-582.
- Yeh F.C, R,C yang, T.Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31 : *Microsoft window-based Freeware for population genetic Analysis*. Canada University of Alberta (CAN).Edmonton,AB.
- Zhao S *et al.* 2010. Impact of dietary protein on lipid metabolism-related gene expression in porcine adipose tissue. *Nutrition & Metabolism* 7:6.



Zsédely,E., A.Király, Cs.Szabò, K.Németh, O.Dòka and J. Schmidt. 2012. Effect of dietary linseed oil soap on lamb meat. International Journal of Medical and Biological Sciences 6:142-145.